DOI:10.11931/guihaia.gxzw201812038

黔产昆明山海棠化学成分及其抑菌活性研究

李江[1,2]，李龚[2]，穆淑珍[2]，张仕林[3]，王莉云[2]，郝小江[2]，邓璐璐[2*]

（1. 贵州大学药学院，贵阳 550025；2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室，贵阳 550014；
3. 贵州汉方药业有限公司，贵阳 550025）

摘 要：采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、半制备型高效液相色谱和重结晶等方法分离纯化，从黔产昆明山海棠乙醇提取物中分离得到 11 个化合物，采用 96 孔板微量稀释法对化合物进行抑菌活性测定。利用 NMR，MS 等现代波谱技术以及化合物的理化性质并结合参考文献分别鉴定为 3-*O*-乙酰基齐墩果酸（**1**），雷酚萜（**2**），3-氧代齐墩果酸（**3**），*β*-谷甾醇（**4**），木栓酮（**5**），*β*-谷甾醇棕榈酸酯（**6**），雷公藤红素（**7**），大黄素（**8**），雷公藤内酯甲（**9**），雷藤二萜醌 B（**10**），ent-kauran-16*β*，19-diol（**11**）。抑菌活性结果显示，化合物 **3**，**7** 和 **8** 具有较好的抑菌作用，MIC 值为 2 ~ 16 μg·mL^{-1}。其中，化合物 **6** 和 **11** 为首次从该植物中分离得到，化合物 **11** 为首次从雷公藤属植物中分离得到，且首次发现了化合物 **3** 和 **7** 对绿脓杆菌和青枯菌具有明显的抑制作用。

关键词：昆明山海棠，雷公藤属，雷公藤红素，雷藤二萜醌 B，抑菌作用

中图分类号：Q946　　　　**文献标识码：**A

Chemical components of *Tripterygium hypoglaucum* from Guizhou Province and their antibacterial activites

LI Jiang[1, 2], LI Yan[2], MU Shuzhen[2], ZHANG Shilin[3],
WANG Liyun[2], HAO Xiaojiang[2], DENG Lulu[2*]

(1. *College of Pharmaceutical Science, Guizhou University*, Guiyang 550025, China; 2. *Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences*, Guiyang 550014, China; 3. *Guizhou Hanfang Pharmaceuticals Company*, Guiyang, 550025, China)

Abstract: 11 compounds were isolated and purified from ethanol extract of *Tripterygium hypoglaucum* from Guizhou province by silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 gel column chromatography, semi-prepared HPLC and recrystallization. Their antibacterial activity were determined by 96-well plate microdilution method. The structures were identified as 3-*O*-acetyloleanolicacetic anhydride (**1**), triptonoterpene (**2**), 3-Oxo-olean-12-en-28-oic acid (**3**), *β*-sitosterol (**4**), friedelin (**5**), *β*-sitosteryl palmitate (**6**), celastrol (**7**), emodin (**8**), wilforlide A (**9**), triptoquinone B (**10**), and ent-kauran-16*β*, 19-diol (**11**) by NMR, MS, physicochemical properties and some reported data. Based on the results of antibacterial activity, compounds **3**, **7** and **8** showed potential activity, and their MIC values were 2 ~ 16 μg·mL^{-1}. Compounds **6** and **11** were isolated from this plant for the first time, and meanwhile compound **11** was also isolated from the genus of *Tripterygium* for the first time. Furthermore it was found firstly that compounds **3** and **7** had significant inhibitory effects on *Pseudomonas aeruginosa* and *Rastonia solanacearum*.

Key word: *Tripterygium hypoglaucum*, *Tripterygium*, celastrol, triptoquinone B, antibacterial activity

昆明山海棠（*Tripterygium hypoglaucum*）又名紫金皮、大方藤、洋道藤、粉背雷公藤、九团花、火把花等，是卫矛科（Celastraceae）雷公藤属（*Tripterygium*）有毒木质藤本植物。产于贵州、湖南、云南、广西、江西等地，贵州主要分布在梵净山、雷公山、台江、龙里、兴仁、兴义等地。目前临床上相关药品及制剂主要作为免疫抑制剂，用于治疗类风湿性关节炎、慢性肾炎、麻风反应、白血病和红斑狼疮等多种胶元性疾病

基金项目：国家自然科学基金（81460530）；贵阳市科技计划项目（筑科合同[20151001]药 14 号）[Supported by the National Natural Science Foundation of China (81460530); Guiyang Science and Technology Plan Project ZKH (20151001) Medicine 14] 。

作者简介：李江（1993-），男，贵州省仁怀人，硕士研究生，主要从事天然产物化学研究，(E-mail) 279633187@qq.com。

***通信作者：**邓璐璐，硕士，助理研究员，主要从事天然产物化学研究，(E-mail) 530529759@qq.com。

及自身免疫性疾病，且疗效确切，效果良好（国家中医药管理局《中华本草》编委会，1999）；近年来药理学实验研究表明昆明山海棠还具有抗生育作用（周激文等，1991；Zhen et al., 1995）。目前，针对昆明山海棠，国内外均以抗肿瘤方面的研究为主，而其抑菌活性少见报道，为开发利用该植物资源，探索昆明山海棠的化合物结构及其活性成分，本研究对黔产昆明山海棠抑菌活性明显的乙酸乙酯萃取部位化学成分进行初步研究，从中共分离鉴定 11 个化合物，分别鉴定为 3-*O*-乙酰基齐墩果酸（3-*O*-acetyloleanolicacetic anhydride，**1**），雷酚萜（triptonoterpene，**2**），3-氧代齐墩果酸（3-Oxo-olean-12-en-28-oic acid，**3**），*β*-谷甾醇（*β*-sitosterol，**4**），木栓酮（friedelin，**5**），*β*-谷甾醇棕榈酸酯（*β*-sitosteryl palmitate，**6**），雷公藤红素（celastrol，**7**），大黄素（emodin，**8**），雷公藤内酯甲（wilforlide A，**9**），雷藤二萜醌 B（triptoquinone B，**10**），ent-kauran-16*β*，19-diol（ent-kauran-16*β*，19-diol，**11**），化合物结构见图 1。其中，化合物 **6**，**11** 为首次从该植物中分离得到，化合物 **11** 为首次从雷公藤属植物中分离得到，并对分离得到的 11 个化合物进行了抗菌活性研究，其中化合物 **3** 和 **7** 的 MIC 值均小于 8 μg·mL^{-1}。该研究进一步丰富了昆明山海棠的化学研究，为综合利用昆明山海棠资源奠定了基础。

图 1 昆明山海棠中化合物结构（**1-11**）

Fig. 1 Structures of compounds **1-11** from the *Tripterygium hypoglaucum*

1. 材料

仪器：恒温振荡器 HZQ-F160A（上海一恒科学仪器有限公司），立式压力蒸汽灭菌锅 LDZX-50KBS（上海申安医疗器械厂），SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台（苏州净化设备有限公司），电子天平 FA2204B（上海精科天美科学仪器有公司），INOVA-400 MHz 核磁共振波谱仪，Bruker AM-400 和 DRX-500 核磁共振仪（TMS 为内标，瑞士 Bruker 公司），Si-HPLC 半制备色谱仪（美国 Waters 公司），Sephadex LH-20 凝胶（40 ~ 70 μm，瑞士 Amersham Pharmacia Biotech AB 公司）。材料：柱层析硅胶（200 ~ 300 目和 300 ~ 400 目），硅胶 H（10 ~ 40 μm）和薄层层析用硅胶 GF_{254}（0.20 ~ 0.25 mm）（青岛海洋化工厂）。试剂：本实验所用 HPLC 试剂均为色谱纯试剂，二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、甲醇、乙醇（分析纯，上海泰坦科技股份有限公司），氯仿（工业级，使用前经重蒸处理），其余试剂为国产分析纯。LB 培养基：胰蛋白胨 10.0 g·L^{-1}，

酵母提取物 5.0 g ·L^{-1}，NaCl 10.0 g ·L^{-1}，pH=7.4，在高压下 121℃湿热灭菌 21 min。阳性对照药：环丙沙星（萨恩化学技术有限公司）。

昆明山海棠 2016 年 10 月采集于贵州省雷山县，经贵阳中医学院孙庆文教授鉴定为昆明山海棠（*T. hypoglaucum*）的根，标本存放于省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室。

金黄色葡萄球菌（*Staphyloccus aureus*），绿脓杆菌（*Pseudomonas aeruginosa*），枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*），青枯菌（*Rastonia solanacearum*）由省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室李娄老师提供。

2. 方法

2.1 提取与分离

取昆明山海棠干燥根 19.4 kg，用无水乙醇提取 3 次，时间分别为 4，3，2 h，合并提取液，用水：乙醇提取液=1：1 减压回收乙醇至无醇味，得到昆明山海棠水溶液；用乙酸乙酯萃取上述水溶液 3 次，浓缩乙酸乙酯层萃取液得到浸膏 275 g，经常压硅胶柱层析，以石油醚-乙酸乙酯、氯仿-甲醇溶剂系统梯度洗脱，得到 Fr. 1 ~ 7。Fr. 2（9.4 g）经硅胶柱层析，以石油醚-乙酸乙酯= 200：1 洗脱，并通过重结晶得到化合物 **5**（18 mg）和 **6**（56 mg）。Fr. 5（69.2 g）经硅胶柱层析，以石油醚-乙酸乙酯、氯仿-甲醇溶剂系统梯度洗脱，得到 Fr. 5.1 ~ 5.5。Fr.5.1 经硅胶柱层析，以石油醚-乙酸乙酯= 30：1 洗脱以及 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离（甲醇），得到化合物 **1**（39 mg），**2**（5 mg），**3**（563 mg），**4**（803 mg）和 **8**（12 mg）。Fr. 5.2 经硅胶柱层析，以氯仿-甲醇=40：1 洗脱，Si-HPLC（甲醇：水=88：12）以及 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱（氯仿：甲醇=1：1，甲醇），分离得到化合物 **7**（140 mg），**9**（9 mg），**10**（22 mg）和 **11**（16 mg）。

2.2 最小抑菌浓度（MIC）的测定

2.2.1 菌悬液的制备

将活化的各供试菌种分别接种 3 ~ 5 个单菌落于 30 mL LB 培养基的 100 mL 三角瓶中，增殖 6 h，再另取提前装好 3 mL LB 培养基用于稀释菌液至 1.5×10^8 个 ·mL^{-1}，再用 LB 培养基稀释 1000 倍即为 1.5×10^5 个 ·mL^{-1} 备用。

2.2.2 最小抑菌浓度（MIC）的测定

在无菌操作台上将灭菌后的 LB 培养基，加入 100 μL 于 96 孔板每个孔中，A，B，C 3 排的第 1 孔加入配制的药液 A（浓度为 1024 μg ·mL^{-1}）100 μL；D，E，F 3 排的第 1 孔加入配制的药液 B（浓度为 1024 μg ·mL^{-1}）100 μL，用移液枪对 A ~ F 排充分吹打使药液与培养基混匀，然后进行 2 倍稀释，照此重复至第 12 孔，第 12 孔混匀后吸 100 μL 弃去；将配制的菌悬液加 100 μL 于 96 孔板中，重复 3 次（A，B，C 3 排样品）；在同一 96 孔板上的 G 排为空白对照（空白培养基）和 F 排为阴性对照（菌液和培养基），于 37℃恒温培养 18 ~ 24 h，96 孔板中没有混浊的最后 1 孔的最低药液浓度为该化合物的最小抑菌浓度（μg ·mL^{-1}），分别记录实验结果。

3. 结果与分析

3.1 结构鉴定

化合物 **1**：白色粉末，EI-MS (*m/z*)：498 [M]$^+$，分子式为 $C_{32}H_{50}O_4$。^{1}H-NMR (400 MHz，$CDCl_3$) *δ*: 5.27 (1H，t，*J* = 4.0 Hz，H-12)，4.49 (1H，t，*J* = 8.0 Hz，H-3)，2.83 (1H，dd，*J* = 13.8，4.6 Hz，H-18)，2.05 (3H，s，Me-OAc)，1.12 (3H，s，Me)，0.94 (3H，s，H-30)，0.93 (3H，s，H-29)，0.90 (3H，s，H-25)，0.86 (3H，s，H-23)，0.85 (3H，s，H-24)，0.74 (3H，s，H-26)；^{13}C-NMR (100 MHz，$CDCl_3$) *δ*: 38.0 (C-1)，23.4 (C-2)，80.9 (C-3)，37.7 (C-4)，55.2 (C-5)，18.1 (C-6)，32.4 (C-7)，39.2 (C-8)，47.5 (C-9)，36.9 (C-10)，22.8 (C-11)，122.5 (C-12)，143.6 (C-1 3)，41.5 (C-14)，27.6 (C-15)，23.5 (C-16)，45.8 (C-17)，40.8 (C-18)，46.5 (C-19)，30.6 (C-20)，33.7 (C-21)，32.5 (C-22)，28.0 (C-23)，16.6 (C-24)，15.4 (C-25)，17.1 (C-26)，25.9 (C-27)，184.2 (C-28)，23.6 (C-29)，33.0 (C-30)，171.1 (C=O)，21.3 (C-CH_3)。以上数据与 Carvalho et al.（1993）报道一致，故鉴定化合物 **1** 为 3-*O*-乙酰基齐墩果酸。

化合物 **2**：白色结晶，EI-MS (*m/z*)：300 [M]$^+$，分子式为 $C_{20}H_{28}O_2$。^{1}H-NMR (400 MHz，$CDCl_3$) *δ*: 7.04 (1H，d，*J* = 8.3 Hz，H-12)，6.86 (1H，d，*J* = 8.3 Hz，H-11)，4.69 (1H，s，-OH)，3.12 (1H，sept，*J* = 7.0 Hz，H-15)，2.89 (1H，m，H-5)，2.70 (2H，m，H-7)，2.58 (2H，m，H-2)，1.92 (2H，m，H-1)，1.87 (2H，m，H-6)，1.33 (3H，s，H-20)，1.27 (3H，s，H-19)，1.25 (3H，s，H-18)，1.17 (3H，d，*J* = 7.0

Hz，H-16)，1.14 (3H，d，J = 7.0 Hz，H-17)；^{13}C-NMR (100 MHz，$CDCl_3$) δ：37.1 (C-1)，34.7 (C-2)，217.2 (C-3)，47.3 (C-4)，50.0 (C-5)，19.5 (C-6)，24.6 (C-7)，120.8 (C-8)，146.4 (C-9)，37.6 (C-10)，117.3 (C-11)，123.6 (C-12)，130.3 (C-13)，150.1 (C-14)，26.9 (C-15)，22.5 (C-16)，22.7 (C-17)，24.4 (C-18)，26.6 (C-19)，21.2 (C-20)。以上数据与（Kutney & Han, 1996）报道一致，故鉴定化合物 **2** 为雷酚萜。

化合物 **3**：白色粉末，EI-MS (m/z)：454 [M]$^+$，分子式为 $C_{30}H_{46}O_3$。^{1}H-NMR (400 MHz，$CDCl_3$) δ：5.30 (1H，t，J = 4.0 Hz，H-12)，2.83 (1H，dd，J = 13.7，4.1 Hz，H-18)，2.54 (1H，m，H-2)，2.36 (1H，m，H-2)，1.14 (3H，s，CH_3)，1.08 (3H，s，H-30)，1.04 (3H，s，H-29)，1.03 (3H，s，H-25)，0.93 (3H，s， H-23)，0.91 (3H，s，H-24)，0.81 (3H，s，H-26)；^{13}C-NMR (100 MHz，$CDCl_3$) δ：39.1 (C-1)，34.1 (C-2)， 217.8 (C-3)，46.6 (C-4)，55.3 (C-5)，19.5 (C-6)，32.1 (C-7)，39.2 (C-8)，47.4 (C-9)，36.8 (C-10)，22.9 (C-11)，122.3 (C-12)，143.6 (C-13)，41.7 (C-14)，27.7 (C-15)，23.6 (C-16)，46.9 (C-17)，41.0 (C-18)，45.8 (C-19)，30.7 (C-20)，33.1 (C-21)，32.4 (C-22)，21.4 (C-23)，26.4 (C-24)，15.0 (C-25)，17.0 (C-26)，25.8 (C-27)，183.9 (C-28)，33.8 (C-29)，23.5 (C-30)。以上数据与 Sun et al.（2008）报道一致，故鉴定化合物 **3** 为 3-氧代齐墩果酸。

化合物 **4**：白色针晶，EI-MS (m/z)：414 [M]$^+$，分子式为 $C_{29}H_{50}O$。^{1}H-NMR (500 MHz，$CDCl_3$) δ：5.30 (1H，br.d，H-6)，3.65 (1H，m，H-3)，0.96 (3H，s，H-19)，0.88 (3H，d，J = 6.6 Hz，H-21)，0.82 (3H，t，J = 7.5 Hz，H-29)，0.80 (3H，d，J = 6.8 Hz，H-27)，0.77 (3H，d，J = 6.8 Hz，H-26)，0.64 (3H，sH-18)；^{13}C-NMR (125 MHz，$CDCl_3$) δ：37.2 (C-1)，31.4 (C-2)，71.6 (C-3)，42.1 (C-4)，140.8 (C-5)，121.6 (C-6)，31.8 (C-7)，31.8 (C-8)，50.0 (C-9)，36.4 (C-10)，21.0 (C-11)，39.7 (C-12)，42.2 (C-13)，56.7 (C-14)，24.2 (C-15)，28.2 (C-16)，55.9 (C-17)，11.8 (C-18)，19.3 (C-19)，36.1 (C-20)，18.9 (C-21)，33.8 (C-22)，29.0 (C-23)，45.7 (C-24)，25.9 (C-25)，18.7 (C-26)，19.7 (C-27)，23.0 (C-28)，11.8 (C-29)。以上数据与 Li et al.（2008）报道一致，故鉴定化合物 **4** 为 β-谷甾醇。

化合物 **5**：白色针晶，EI-MS (m/z)：426 [M]$^+$，分子式为 $C_{30}H_{50}O$。^{1}H-NMR (500 MHz，$CDCl_3$) δ：2.31 (1H，m，H-2)，2.25 (1H，m，H-4)，1.18 (3H，s，H-28)，1.05 (3H，s，H-27)，0.98 (3H，s，H-26)，0.99 (6H，d，J = 5.1 Hz，H-29，30)，0.95 (3H，s，H-25)，0.87 (3H，s，H-23)，0.72 (3H，s，H-24)；^{13}C-NMR (125 MHz，$CDCl_3$) δ：22.3 (C-1)，41.5 (C-2)，213.3 (C-3)，58.2 (C-4)，42.1 (C-5)，41.3 (C-6)，18.2 (C-7)，53.1 (C-8)，37.4 (C-9)，59.5 (C-10)，35.6 (C-11)，30.5 (C-12)，38.3 (C-13)，39.7 (C-14)，32.4 (C-15)，36.0 (C-16)，30.0 (C-17)，42.8 (C-18)，35.3 (C-19)，28.2 (C-20)，32.8 (C-21)，39.2 (C-22)，6.8 (C-23)，14.7 (C-24)，17.9 (C-25)，20.3 (C-26)，18.7 (C-27)，32.1 (C-28)，35.0 (C-29)，31.8 (C-30)。以上数据与 Ageta et al.（1995）报道一致，故鉴定化合物 **5** 为木栓酮。

化合物 **6**：白色晶体，EI-MS (m/z)：653 [M]$^+$，分子式为 $C_{45}H_{80}O_2$。^{1}H-NMR (500 MHz，$CDCl_3$) δ：5.37 (1H，d，J = 4.6 Hz，H-6)，4.62 (1H，t，J = 5.5 Hz，H-3)，2.31 (2H，m，H-4)，2.27 (2H，t，J = 7.5 Hz，H-2')，1.85 (2H，m，H-2)，1.26，1.62 (2H，m，H-3')，1.02 (3H，s，H-19)，0.92 (2H，d，J = 6.5 Hz，H-24)，0.89 (2H，m，H-21)，0.84 (2H，m，H-26)，0.82 (3H，s，H-29)，0.68 (3H，s，H-18)；^{13}C-NMR (125 MHz，$CDCl_3$) δ：37.0 (C-1)，27.8 (C-2)，73.7 (C-3)，38.2 (C-4)，139.7 (C-5)，122.6 (C-6)，31.9 (C-7)，31.9 (C-8)，50.0 (C-9)，36.6 (C-10)，21.0 (C-11)，39.7 (C-12)，42.3 (C-13)，56.7 (C-14)，24.3 (C-15)，28.2 (C-16)，56.0 (C-17)，11.8 (C-18)，19.3 (C-19)，36.2 (C-20)，18.8 (C-21)，33.9 (C-22)，26.1 (C-23)，45.8 (C-24)，29.1 (C-25)，19.8 (C-26)，19.0 (C-27)，23.1 (C-28)，12.0 (C-29)，173.3 (C-1')，34.7 (C-2')，25.1 (C-3')，29.3 (C-4')，29.4 (C-5')，29.5 (C-6')，29.6 (C-7')，29.7 (C-8')，29.7 (C-9')，29.7 (C-10')，29.7 (C-11')，29.7 (C-12')，29.7 (C-13')，31.9 (C-14')，22.7 (C-15')，14.1 (C-16')。以上数据与孙红祥等（2002）报道一致，故鉴定化合物 **6** 为 β-谷甾醇棕榈酸酯。

化合物 **7**：红色结晶，ESI-MS (m/z)：473 [M+Na]$^+$，分子式为 $C_{29}H_{38}O_4$。^{1}H-NMR (500 MHz，$CDCl_3$) δ：7.06 (1H，d，J = 5.2 Hz，H-6)，6.49 (1H，brs，H-1)，6.32 (1H，d，J = 6.3 Hz，H-7)，2.21 (3H，s，H-23)，1.43 (3H，s，H-24)，1.27 (3H，s，H-28)，1.24 (3H，s，H-25)，1.09 (3H，s，H-27)，0.58 (3H，s，H-26)；^{13}C-NMR (125 MHz，$CDCl_3$) δ：120.4 (C-1)，178.3 (C-2)，147.0 (C-3)，120.5 (C-4)，127.5 (C-5)，135.4 (C-6)，118.3 (C-7)，172.7 (C-8)，43.1 (C-9)，165.0 (C-10)，33.8 (C-11)，29.3 (C-12)，39.3 (C-13)，45.3 (C-14)，28.7 (C-15)，36.3 (C-16)，30.6 (C-17)，44.2 (C-18)，31.0 (C-19)，39.9 (C-20)，29.5 (C-21)，

34.5 (C-22)，10.5 (C-23)，38.3 (C-24)，21.4 (C-25)，18.7 (C-26)，31.5 (C-27)，182.5 (C-28)，32.4 (C-29)。以上数据与倪慧艳等（2014）报道一致，故鉴定化合物 **7** 为雷公藤红素。

化合物 **8**：黄色粉末，ESI-MS (*m/z*)：269 [M-H]$^-$，分子式为 $C_{15}H_{10}O_5$。^{1}H-NMR (500 MHz，$CDCl_3$) δ：7.52 (1H，br s，H-4)，7.18 (1H，d，*J* = 3.2 Hz，H-5)，7.03 (1H，d，*J* = 1.8 Hz，H-2)，6.57 (1H，d，*J* = 3.2 Hz， H-7)，2.43 (3H，s，H-11)；^{13}C-NMR (125 MHz，$CDCl_3$) δ：165.8 (C-1)，124.9 (C-2)，148.8 (C-3)，121.5 (C-4)，133.9 (C-4a)，109.8 (C-5)，166.8 (C-6)，108.9 (C-7)，162.8 (C-8)，114.3 (C-8a)，191.0 (C-9)，110.2 (C-9a)，183.1 (C-10)，136.0 (C-10a)，22.2 (C-11)。以上数据与 Kim et al.（2016）报道一致，故鉴定化合物 **8** 为大黄素。

化合物 **9**：无色针状晶体，ESI-MS (*m/z*)：477 [M+Na]$^+$，分子式为 $C_{30}H_{46}O_3$。^{1}H-NMR (500 MHz，$CDCl_3$) δ：5.30 (1H，t，*J* = 3.7 Hz，H-12)，4.14 (1H，d，*J* = 5.4 Hz，H-22)，3.21 (1H，m，H-3)，1.20 (3H，s，H-30)，1.07 (3H，s，H-27)，0.99 (3H，s，H-23)，0.94 (3H，s，H-25)，0.93 (3H，s，H-26)，0.86 (3H，s，H-28)，0.78 (3H，s，H-24)；^{13}C-NMR (125 MHz，$CDCl_3$) δ：38.6 (C-1)，27.2 (C-2)，78.9 (C-3)，38.8 (C-4)，55.2 (C-5)，18.3 (C-6)，33.1 (C-7)，42.5 (C-8)，47.5 (C-9)，37.0 (C-10)，23.5 (C-11)，124.7 (C-12)，140.2 (C-13)，39.3 (C-14)，25.2 (C-15)，24.3 (C-16)，35.3 (C-17)，43.4 (C-18)，39.8 (C-19)，39.5 (C-20)，33.9 (C-21)，83.2 (C-22)，28.1 (C-23)，15.7 (C-24)，15.7 (C-25)，17.0 (C-26)，24.1 (C-27)，25.0 (C-28)，182.5 (C-29)，21.0 (C-30)。以上数据与（Wang & Wang, 2014）报道一致，故鉴定化合物 **9** 为雷公藤内酯甲。

化合物 **10**：无定形粉末，ESI-MS (*m/z*)：353 [M+Na]$^+$，分子式为 $C_{20}H_{26}O_4$。^{1}H-NMR (500 MHz，$CDCl_3$) δ：6.35 (1H，d，*J* = 1.0 Hz，H-12)，4.03 (1H，d，*J* = 11.4 Hz，H-19)，3. 44 (1H，d，*J* = 11.4 Hz，H-19)，2.98 (1H，sept，d，*J* = 6.9，1.2 Hz，H-15)，2.82 (1H，m，H-7)，2.78 (1H，m，H-1)，2.67 (1H，m，H-2)，2.46 (1H，ddd，*J* = 15.7，9.0，5.9 Hz，H-2)，2.27 (1H，m，H-7)，1.99 (1H，dd，*J* = 13.0，2.2 Hz，H-5)，1.86 (1H，m，H-6)，1.79 (1H，m，H-7)，1.44 (1H，m，H-1)，1.32 (3H，s，18-Me)，1.26 (3H，s，20-Me)，1.09 (6H，dd，*J* = 6.9，1.7 Hz，16，17-Me)；^{13}C-NMR (125 MHz，$CDCl_3$) δ：34.4 (C-1)，34.2 (C-2)，220.6 (C-3)，50.2 (C-4)，51.6 (C-5)，17.8 (C-6)，25.4 (C-7)，142.5 (C-8)，147.5 (C-9)，37.0 (C-10)，187.3 (C-11)，131.8 (C-12)，153.3 (C-13)，187.5 (C-14)，26.3 (C-15)，21.3 (C-16)，21.2 (C-17)，22.5 (C-18)，65.5 (C-19)，21.1 (C-20)。以上数据与张彦文等（2007）报道一致，故鉴定化合物 **10** 为雷藤二萜醌 B。

化合物 **11**：无色针状晶体，ESI-MS (*m/z*)：329 [M+Na]$^+$，分子式为 $C_{20}H_{34}O_2$。^{1}H-NMR (600 MHz，$CDCl_3$) δ：1.82 (1H，m，H-13)，1.55 (2H，s，H-15)，1.38 (3H，s，H-17)，1.03 (3H，s，H-20)，0.97 (1H，d，*J* = 6.2 Hz，H-9)，0.95 (3H，s，H-18)，0.91 (1H，t，*J* = 11.2 Hz，H-5)；^{13}C-NMR (150 MHz，$CDCl_3$) δ：40.4 (C-1)，18.3 (C-2)，35.7 (C-3)，39.2 (C-4)，56.8 (C-5)，20.7 (C-6)，42.4 (C-7)，45.3 (C-8)，57.0 (C-9)，38.7 (C-10)，18.0 (C-11)，26.8 (C-12)，49.0 (C-13)，37.5 (C-14)，57.9 (C-15)，79.3 (C-16)，24.5 (C-17)，27.1 (C-18)，65.5 (C-19)，18.3 (C-20)。以上数据与 Rocha et al.（2009）报道一致，故鉴定化合物 **11** 为 ent-kauran-16β，19-diol。

3.2 化合物抗菌活性结果

以金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、青枯菌、枯草芽孢杆菌等 4 种菌株对分离鉴定的 11 个化合物进行抗菌活性筛选，结果表明化合物 **3**，**7**，**8** 和 **10** 对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、青枯菌有抑制作用，尤其是化合物 **3**，**7** 和 **8** 对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、青枯菌有较强的抗菌作用，MIC 值为 2 ~ 16 μg ·mL^{-1}（表 1）。

表 1 化合物 **1 - 11** 的最小抑菌浓度

Table 1 The minimum inhibitory concentration of compounds **1 - 11**（μg ·mL^{-1}, *n*=3）

化合物 Compounds	菌种名称 Trains of bacteria			
	金黄色葡萄球菌 *Staphyloccus aureus*	绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa*	枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*	青枯菌 *Rastonia solanacearum*
1	—	—	—	—
2	—	—	—	—

3	4	2	—	8
4	—	—	—	—
5	—	—	—	—
6	—	—	—	—
7	4	4	—	4
8	8	16	—	16
9	—	—	—	—
10	64	128	—	128
11	—	—	—	—
环丙沙星	2	4	1	2

注：“—”表示没有活性。

Note: “—” indicates no activity.

4 结论与讨论

昆明山海棠和雷公藤是雷公藤属植物中的两个种，二者药理作用很相似，均具有显著的抗炎、抗肿瘤等活性，但其毒性要低于雷公藤。目前，针对雷公藤的相关研究及文献报道非常多，相比之下，对昆明山海棠的化学成分及其生物活性研究就显得比较少。通过对黔产昆明山海棠化学成分及其抑菌活性的研究，共分离鉴定化合物 11 个，其中化合物 **6**，**11** 为首次从该种植物中分离得到，且化合物 **11** 为首次从雷公藤属植物中分离得到。抑菌活性结果显示，化合物 **3**，**7**，**8** 和 **10** 对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、青枯菌有抑制作用，并首次发现了化合物 **3**，**7** 对绿脓杆菌和青枯菌具有明显的抑制作用。从抑菌结果可以推测昆明山海棠的抑菌活性成分主要为萜类化合物，后续还需对分离得到的其他同类化合物进行抑菌活性测定，并对其构效关系进行研究，为设计和改造具有更高活性的化合物提供思路。另外，针对化合物 **3**，**7** 的毒性、其对绿脓杆菌抗药性方面的研究，以及对青枯菌的抑菌作用机理也有待进一步探究。

参考文献：

AGETA H, ARAI Y, SUZUKI H, et al., 1995. NMR spectra of triterpenoids.III. oleanenes and migrated oleanenes[J]. Chem Pharm Bull, 43 (2): 198-203.

CARVALHO LM, SEITA J, 1993. A new oleanolic acid derivative from *securinega tinctoria*[J]. Planta Med, 59 (4): 369-372.

Editorial Board of *the Chinese herbology* of the State Administration of Traditional Chinese Medicine, 1999. The Chinese herbology[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 200-205. [国家中医药管理局《中华本草》编委会，1999. 中华本草[M]. 上海：上海科学技术出版社：200-205.]

KIM MO, PARK YS, NHO YH, et al., 2016. Emodin isolated from Polygoni Multiflori Ramulus inhibits melanogenesis through the Liver X receptor-mediated pathway[J]. Chem-Bio Interact, 250: 78-84.

KUTNEY JP, HAN K, 1996. Studies with plant-cell cultures of the chinese herbal plant, *Tripterygium wilfordii*. isolation and characterization of diterpenes[J]. Rec Trav Chim-J Roy Neth Chem, 115: 77-93.

LI WH, CHANG ST, CHANG SC, et al., 2008. Isolation of antibacterial diterpenoids from *Cryptomeria japonica* bark[J]. Nat Prod Res, 22 (12): 1085-1093.

NI HY, ZHANG CH, SONG WJ, et al., 2014. Chemical constituents of root bark of *Celastrus orbiculatus* Thunb[J]. Chin Pharmacol J, 49 (21): 1889-1891. [倪慧艳，张朝晖，宋文静，等，2014. 南蛇藤化学成分研究[J]. 中国药学杂志，49 (21)：1889-1891.]

ROCHA D, TAKAHASHI JA, BOAVENTURA MAD, 2009. Di-and Tri-hydroxylated kaurane derivatives from microbial transformation of ent-kaur-16-en-19-ol by *Cephalosporium Aphidicola* and their allelopathic activity on *Lactuca Sativa*[J]. Ecl. Quím, São Paulo, 34 (1): 57-62.

SUN H, FANG WS, HU C, 2008. An efficient semi-synthesis and structure revision of a cytotoxic triterpenoid 25-acetoxy-3α-hydroxyolean-12-en-28-oic acid from *Liquidamber styraciflua*[J]. J Asian Natl Prod Res, 10 (4): 271-276.

SUN HX, YE YP, YANG K, 2002. Studies on the chemical constituents in *Radix Astilbes Chinensis*[J]. Chin J Chin Mater Med, (10): 34-37. [孙红祥，叶益萍，杨可，2002. 落新妇化学成分研究[J]. 中国中药杂志，(10)：34-37.]

WANG KW, WANG SW, 2014. Chemical constituents of *Euonymus bockii*[J]. Chem Nat Compd, 50 (5): 948-949.

ZHANG YW, FAN YS, WANG XD, et al., 2007. Diterpenoids possessed immunosuppressive activity from *Tripterygium hypoglaucum*[J]. Chin Trad Herbal Drugs, (4): 493-496. [张彦文，范云双，王晓东，等，2007. 昆明山海棠中具有免疫抑制活性的二萜化合物[J]. 中草药，(4)：493-496.]

ZHEN QS, YE S, WEI ZJ, 1995. Recent progress in research on tripterygium: amaleanti-fertility plant[J]. Contraception, 51 (2): 121-129.

ZHOU JW, PAN RN, LIU LW, 1991. Preliminary report on the anti-fertility effect of *T. hypoglaucum* Lévl. Hutchins. on male rats[J]. Med Pharm Yunnan, 12 (4): 232-235. [周激文，潘汝能，刘黎闻，1991. 昆明山海棠对雄性大鼠的抗生育作用初试报告[J]. 云南医药，12 (4)：232-235.]